

Niveles de metahemoglobina en niños que consumen agua contaminada por nitratos

E. Calleros^{1,2*}, M. T. Alarcón², J. A. Cueto³ y L. H. Sanin^{4,5}

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. Gómez Palacio, Dgo.

² Centro de Investigación en Materiales Avanzados, CIMAV, Miguel de Cervantes 120, Complejo Industrial Chihuahua. Chihuahua 31109, Chihuahua, México ³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. CENID-RASPA, Gómez Palacio, Dgo.

⁴ Facultad de Enfermería y Nutriología Universidad Autónoma de Chihuahua, México. ⁵ Instituto Nacional de Salud Pública de México.

Methemoglobin levels in children who consumed water contaminated by nitrates.

Abstract

To give an importance of water quality for human consumption and its relation to health, the objective of this study was to analyze the association between nitrate levels in drinking water and the presence of target hemoglobin in children from 0 to 12 age of a small town in the county Lagunera, of Durango, Mexico. That population consumes water from two wells with different concentrations of nitrate, one of them slightly above the standard Mexican (10 mg l⁻¹). This paper presents the preliminary data from a pilot study. The study methodology consisted in a comparative cross design in 2 groups of children between 2 and 12 years of age. The first group (exposed) consisted of 25 children and the second (control) of 19 who had lived in the area for more than a year and had taken water from the wells with concentrations 11.8 mg l⁻¹y⁻¹ and 4.7 mg l⁻¹y⁻¹ respectively. The relationship was adjusted by gender and passive tobacco exposure. Logistic regression was used to analyze the ratio momios (MRI) as a measure of association. The results indicate that there were not significant differences between the proportion of children with detectable levels of methaemoglobin in the exposed group (32 %) and those in the control group (21 %) ($p \geq 0.05$). MRI crude was 1.6 (95 % CI 0.3 to 8.1). The age of the subjects showed no association. The children had increased risk of detectable levels (OR 6.1 $p < 0.05$) than girls, even after adjusting for the type of well. It is possible to see the trend towards an increased risk in the exposed group despite the size of the sample. To continue with the study there will be done an adjustment of the sample size .

Keywords: nitrates, water, metahemoglobinemia, health, effects, environment.

Resumen

Dada la importancia que tiene la calidad del agua de consumo humano y su relación con la salud, el objetivo del presente estudio fue analizar la asociación entre los niveles de nitratos en el agua de beber y la presencia de metahemoglobina en niños de 0 a 12 años de edad de un pequeño poblado en la comarca Lagunera, de Durango, México. Dicha población consume agua de dos pozos con diferentes concentraciones de nitratos, uno de ellos ligeramente arriba de la norma mexicana (10 mg l⁻¹). Se presentan los datos preliminares de un estudio piloto. La metodología de estudio consistió en un diseño transversal comparativo, en 2 grupos de niños entre 2 y 12 años de edad. El primer grupo (expuesto) estuvo integrado por 25 niños y el segundo (control) por 19, quienes habían vivido en el área por mas de un año y habían tomado el agua de los pozos con concentraciones de 11.8 mg l⁻¹y⁻¹ y 4.7 mg l⁻¹y⁻¹ respectivamente. Se tomó en cuenta el género y el tabaquismo pasivo. Se usó regresión logística para el análisis con la Razón de momios (RM) como medida de asociación. Los resultados indican que no hubo diferencias significativas entre la proporción de niños con niveles detectables de metahemoglobina en el grupo expuesto (32 %) y aquellos del grupo control (21 %) ($p \geq 0.05$). La RM cruda fue 1.6 (IC95 % 0.3 a 8.1). La edad de los sujetos no mostró asociación. Los niños

* Autor de correspondencia
E-mail: esperanza.calleros@gmail.com

tuvieron mayor riesgo de presentar niveles detectables (OR 6.1 $p < 0.05$) que las niñas, aún después de ajustar por el tipo de pozo. Es posible ver la tendencia hacia un mayor riesgo en el grupo expuesto a pesar del tamaño de la muestra. Para la continuación del presente estudio, se ajustará el tamaño de muestra.

Palabras Clave: nitratos, agua, metahemoglobinemia, salud, efectos, ambiental.

Introducción

El agua puede estar contaminada por compuestos orgánicos e inorgánicos como son los nitratos, entre muchos otros, actualmente los nitratos son uno de los contaminantes producidos en gran parte por la excesiva fertilización de los campos y el manejo inadecuado de estiércol que producen los hatos ganaderos (Cueto, 2001). Las fuentes ambientales más importantes son el uso de fertilizantes nitrogenados, la disposición de excretas y desechos municipales e industriales. Aunque el nitrito es el compuesto tóxico, debido a que se forma a partir de los nitratos, un factor determinante en la incidencia de la toxicidad es la concentración de nitratos en el agua (Pacheco, 2002). La Comarca Lagunera, es considerada actualmente una de las cuencas lecheras más importante de nuestro país, cubre en gran parte la demanda de leche en el país abasteciendo a su vez la demanda de alimento forrajero para el ganado y de hortalizas para consumo humano en la región (Cueto, 2001). Para mejorar los cultivos, se han utilizado de forma no controlada fertilizantes ricos en nitratos contribuyendo con ello a la acumulación de grandes cantidades de nitratos en los campos (Medina, 2001). Esto aunado al hecho de que el ganado vacuno produce grandes cantidades de estiércol rico en compuestos de nitrógeno que pueden percolar hacia el acuífero, ha propiciado que en algunas comunidades el agua de abastecimiento humano tenga cantidades de nitratos por arriba de los límites recomendados para consumo humano.

Una de las principales reservas de agua para la Comarca Lagunera la constituye el acuífero de ciudad Juárez, Durango, que actualmente abastece a diferentes ejidos en donde la concentración de nitratos se encuentra entre 4 y 129 mg l⁻¹, en los pozos agrícolas (CNA, 2004; Cueto, 2001). El agua para consumo humano debe cumplir con diferentes criterios de calidad, los cuales están establecidos en la Norma Oficial Mexicana 127- SSA- 1994 (NOM 127, SSA), en dicha norma se menciona que el

nivel máximo permisible respecto al contenido de nitratos es de 10 mg l⁻¹ expresados como nitrógeno de nitrato, la EPA, (por sus siglas en Inglés, Environmental Protection Agency), considera también la misma concentración, mientras que la Organización Mundial de la Salud marca como nivel máximo permisible 50 mg l⁻¹ (Guías OMS, 2005). Los límites máximos permisibles actuales para nitratos han sido determinados para proteger a la población de la metahemoglobinemia, enfermedad asociada al consumo de agua contaminada con nitratos, ésta enfermedad es más común en niños menores de 12 años, debido al aumento de acidez en el estómago, ocasionando oxidación de la hemoglobina, disminuyendo la captación de oxígeno, produciendo cianosis. La metahemoglobinemia puede también ser una condición heredada o adquirida en la cual el hierro en la hemoglobina (el pigmento rojo de la sangre) es incapaz de transportar oxígeno (Harto, 2001). Hay dos formas de metahemoglobinemias hereditarias: La primera conocida como cianosis, en la cual, la condición autosómica recesiva resulta de la ausencia de una enzima que normalmente convierte la metahemoglobina en hemoglobina normal, lo cual conduce al aumento de metahemoglobina y a disminución de la capacidad de transportar oxígeno. Esto resulta en un color azulado en la piel (cianosis). El segundo tipo, llamado enfermedad de la hemoglobina M, es un rasgo autosómico dominante caracterizado por la producción de metahemoglobina anormal y por lo general produce un grado de cianosis más leve. La exposición a sustancias químicas ambientales causa un aumento en la producción de metahemoglobina en las personas afectadas. Los productos químicos más comunes son los tintes a base de anilina (en telas de colores fuertes), el nitrobenzeno y los nitritos (usados comúnmente para la conservación de las carnes) pueden también producirla. La hemoglobina es única en su capacidad para

combinarse de modo reversible con el oxígeno, sin oxidar su molécula de hierro. La pequeña cantidad de hemoglobina oxidada o producción de metahemoglobina, se reduce rápidamente por las enzimas ligadas a la energía proporcionada por el metabolismo de la glucosa por la vía de la glucólisis. La metahemoglobina es peligrosa debido a su incapacidad de unirse con el oxígeno, y porque aumenta la afinidad del oxígeno de los grupos restantes hem en tetrámeros de hemoglobina, por ello disminuye el transporte de oxígeno hacia los tejidos, la oxidación también puede dar como resultado la desnaturalización de la hemoglobina (cuerpos de Heinz) dentro del eritrocito. La presencia de estos cuerpos altera la superficie de la membrana del eritrocito, produciendo un aumento de la rigidez y fuga, con la resultante hemólisis, la presencia de metahemoglobinemia o hemólisis oxidativa en una persona expuesta a un oxidante, depende de la vía de exposición de las sustancias químicas, la dosis, tiempo de exposición y la susceptibilidad personal. Las anomalías estructurales congénitas (hemoglobinas inestables), los trastornos de capacidades normales de reducción, como la deficiencia ligada a X de la enzima de oxidación reducción G6PD (Glucosa 6 Fosfato Deshidrogenasa), son causa de que algunas personas sean más susceptibles al proceso oxidativo. (Byrd, 1978); (García, 2003).

La metahemoglobinemia, es debida a la deficiencia de oxígeno en la sangre lo cual puede poner en peligro la vida de los niños menores de 0 a 12 años. Una vez que los nitratos han sido transformados en nitritos en el organismo estos se transforman en nitrosaminas, algunas de las cuales han demostrado ser carcinógenas. (XU, 1992; Matheus, 2002). La contaminación con nitratos en agua de consumo humano puede provocar alteraciones en la salud. (Ignazzi, 1993); (Novotny, 1994), Los valores normales de metahemoglobina deben ser menores del 1% en hemoglobina circulante. Con valores de metahemoglobina de 10 a 25 % se presenta cianosis, y cuando los valores llegan a alcanzar 35 al 40 %, existe disnea y cefalea, niveles mayores de 60% hay letargo, mayor de 70% muerte. (MedLine plus, 2007).

Con el objetivo de analizar la asociación entre las concentraciones de nitratos en agua de beber y la proporción de niños con niveles detectables de metahemoglobina se realizó el presente estudio. Se presentan avances del estudio piloto.

Material y métodos

Diseño Transversal Comparativo

Se realizó en la Loma, municipio de ciudad Lerdo, Durango. (Fig. 1,2). El Ejido La Loma, tiene dos pozos de agua destinados al consumo humano, el pozo número 3360 contiene 4,7 mg l⁻¹ de NO₃⁻ y el pozo denominado Ex-Hacienda la Loma con una concentración de 11.80 mg l⁻¹ de NO₃⁻

Población de estudio

Universo: niños de 0 a 12 años de edad, los cuales fueron invitados a participar en el estudio a través de sus padres, previa carta de consentimiento informado, y que cumplieran los siguientes criterios de inclusión: a) Edad de 0 a 12 años b) Residentes del lugar, con un año o más de residencia, c) Que consumieran agua de la llave, d) Niños provenientes de hogares en los cuales se consume agua de pozo o noria.

Los criterios de exclusión considerados fueron: a) Estar de paso por el lugar, b) Tener 13 años o más, c) Consumir agua embotellada o de garrafón, d) Estar tomando medicamentos, (acetaminofén, sulfonas, dapsona etc) e) Utilizar anilina para bolear sus zapatos. Fueron incluidos así 19 niños del grupo control y 25 del grupo expuesto.

Variables

La variable dependiente fue el nivel de metahemoglobina. Se tomó como positiva si había niveles detectables y negativa si no se detectaba. Se analizó en sangre venosa durante la primera hora de su extracción mediante la lectura espectrofotométrica del hemolizado a dos longitudes de onda diferente, 522 nm y 578 nm calculándose luego, la relación: 578 nm/522 nm. Si la relación de ambas absorbancias resultó entre 2.1 a 1.9, el porcentaje de metahemoglobina está entre 0.1 a 1.5%, significando que aunque no hay metahemoglobinemia, clínicamente evidente, si hay niveles detectables de la misma.

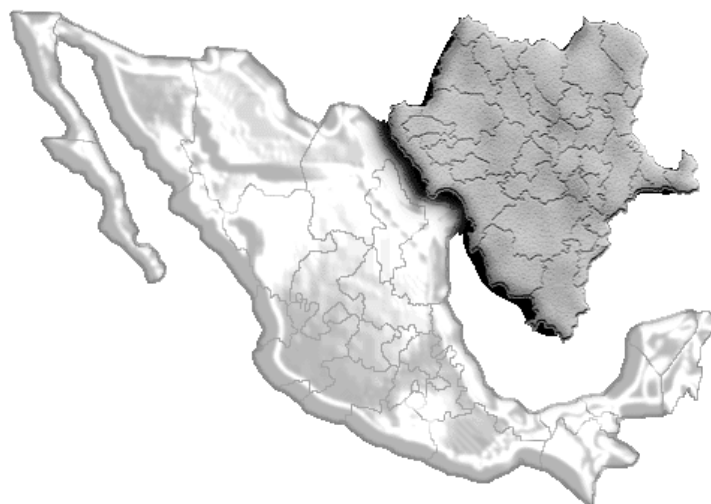


Figura 1. Localización de la zona de Estudio, en el Estado de Durango, México.

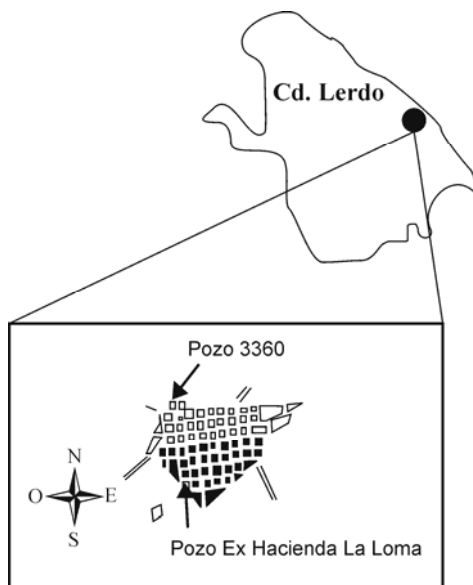


Figura 2. Mapa La Loma, Durango, INEGI. Representa la ubicación de los pozos muestreados, de negro la zona expuesta.

La variable independiente considerada fue el tipo de Pozo: Se tomó como expuestos a todos aquellos niños que consumían agua del pozo con niveles mas altos de nitratos y como control o no expuesto a los que tomaban agua del pozo con niveles dentro de la norma. El análisis de agua se llevó a cabo en el laboratorio del INIFAP de Gómez Palacio, Dgo. El método de análisis fue el colorimétrico establecido por los métodos estándar de análisis.

Las covariables consideradas fueron: Edad de los niños. Número de años cumplidos. Tabaquismo pasivo: Si o no, según pregunta de cuestionario. y Género: Masculino o femenino.

Técnicas e instrumentos

Para invitar a los padres de familia se utilizó una camioneta con sonido (Perifoneo).

Para la sensibilización de los padres de familia, se realizaron 5 pláticas donde acudieron solamente las madres de familia, las razones fueron por migración de los padres a los Estados Unidos o por el horario de trabajo. Abordándose temas de la contaminación del agua en general y la contaminación del agua por los nitratos y sus consecuencias en la población infantil así como la importancia de que permitieran a sus hijos realizar el análisis.

Para la sensibilización de la población infantil se realizaron tres pláticas con la población infantil en el kinder y las primarias en ellas se trataron los temas de contaminación en el medio ambiente, en la naturaleza, haciendo hincapié en la contaminación en el agua, sus causas y los efectos que puede tener el organismo al consumir agua contaminada. Se les comunicó a los padres por escrito y a través de una camioneta de sonido, en la localidad.

Muestreo y análisis de Sangre

El muestreo de sangre se llevo a cabo en la clínica del DIF recibándose 4 muestras previa cita. Esto con el propósito de que debe de examinarse la muestra antes de una hora de extraída la muestra y también por la manipulación del número de tubos.

La determinación de la concentración de metahemoglobinemia se hizo por espectro fotometría en un equipo marca, HACH modelo, DR/4000.

Análisis Estadístico

Se buscó la asociación cruda y ajustada entre la variable dependiente (presencia o no de

metahemoglobina) y la independiente (tipo de pozo) y de la misma con cada una de las covariables, mediante regresión logística y usando como medida de asociación la Razón de Momios (RM) con su respectivo intervalo de confianza al 95%.

Resultados y discusión

De un universo potencial de 259 niños se estudiaron un total de 44 niños que radican en el ejido la Loma, municipio de ciudad Lerdo, Durango, se formaron dos grupos de los cuales 19 niños conforman el grupo control y consumen agua del pozo número 3360, con una concentración de 4.7 mg l^{-1} de N-NO_3^- , y el grupo considerado como expuesto consume agua del pozo denominado ex Hacienda la Loma con una concentración de 11.80 mg l^{-1} N-NO_3^- lo conforman 25 niños. Las edades de los niños estuvieron entre 2 y 12 años con una media de 6.7 y una desviación estándar de 3.0, la mediana fue de 7 años. El 52% fueron niños. (Tabla 1). Se encontraron niveles detectables de metahemoglobina en 7 niños del grupo expuesto (32%) y 4 del grupo control (21%), la diferencia no fue estadísticamente significativa. La Razón de Momios fue de 1.6 ($\text{IC}_{95\%}$ 0.3 a 8.1). El riesgo de presentar niveles detectables de metahemoglobina fue mayor para los niños, aún después de ajustar por el tipo de pozo (RM 6.1 $p < 0.05$). (Tabla 2, 3). No hubo diferencias significativas por edad, ni en relación a tabaquismo pasivo.

El agua puede estar contaminada por elementos orgánicos e inorgánicos como los nitratos, la contaminación por éstos últimos, puede ser natural a partir de fósiles y desechos orgánicos y/o, antropogénica a partir de la fertilización de campos y el estiércol de los hatos ganaderos, estos materiales ricos en elementos nitrogenados pueden lixiviar y contaminar los acuíferos. En la Comarca Lagunera por ser una de las cuencas lecheras más importantes del país, se han fertilizado los campos de manera exagerada, ocasionando la lixiviación de nitratos y contaminando el agua para consumo humano (Cueto, 2001).

Tabla 1. Edades, frecuencia y porcentaje de niños estudiados.

Edad (años)	Frecuencia	Porcentaje (%)
2	2	4.55
3	8	18.8
4	3	6.82
5	3	6.82
6	4	9.09
7	8	18.8
8	2	4.55
9	5	11.36
10	3	6.82
11	-	-
12	2	4.55

Tabla 2. Nivel de exposición con respecto al sexo (P0= exposición baja, P1=exposición alta, 0=mujer, 1=hombre)

Pozo	Sexo		total
	0	1	
P0	8	11	19
P1	13	12	25
Total	21	23	44

Tabla 3. Nivel detectable de metahemoglobina en varones.

Metahemoglobina	Odds ratio	Std. err	P
niños	6.1	52	<0.05

La NOM 127-SSA, así como la EPA (Environmental Protection Agency desde pequeños, trabajan en el campo y pueden consumir agua de pozos agrícolas en donde el nivel de nitratos es aun más alto, las niñas por su condición de género son mas proclives a quedarse en casa y colaborar mas en las labores intramuros.

En estudios relacionados con la ingesta de alimentos con altos contenidos de nitratos, se menciona que niños menores de seis años han presentado metahemoglobinemia por ingerir alimentos como la remolacha, espinacas y judías verdes las cuales han sido regadas con agua con alto contenido de nitratos (Savino, 2006; Sánchez. 2001). Si bien, la tendencia a la diferencia en los niveles de metahemoglobina es clara, existe un problema de poder, por lo cual a partir de estos datos se hizo el ajuste del tamaño de la muestra y se continuará el estudio hasta tener 350 niños. Una limitante importante en el presente estudio fue que no se logró estudiar a niños menores de un año de edad, quienes son los más susceptibles a desarrollar el problema. Aunque la población fue sensibilizada por medio de pláticas, las madres no aceptaron participar con sus bebés, ya que consideraban que tratándose de un bebé no estaban dispuestas a que

se les lastimará con la venopunción.

Conclusión

Clínicamente no se encontró metahemoglobinemia en los niños estudiados, Sin embargo si hubo una tendencia a la diferencia en la proporción de niños que presentaron niveles detectables de metahemoglobina en ambos grupos. De acuerdo a los resultados el tamaño de muestra se ajustará a 350 niños para obtener un poder del 90%, Se sugiere estudiar profundamente la relación con género ya que ello puede implicar un importante factor de riesgo de exposición a considerar. La vigilancia epidemiológica con la prueba aquí realizada puede ser una alternativa, como evento centinela de la contaminación por nitratos, antes de la ocurrencia de eventos más graves y masivos.

Agradecimientos

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (CONACYT). Delegación Zona Norte. Chihuahua, Chih. Consejo de Ciencia y Tecnología de Durango. (COCYTED) Centro de Investigación en Materiales Avanzados. (CIMAV), Chihuahua, Chihuahua
 Universidad Juárez del Estado de Durango.
 Facultad de Ciencias Químicas Universidad Juárez del Estado de Durango. Unidad Gómez Palacio, Durango.

Bibliografía

- Andrés Harto Castaño, Luis Lagoma Lorén, Luis Asensio Cristóbal, 2001. La metahemoglobina como indicador de exposición a agentes químicos. Aplicación y limitaciones. XII Congreso Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Valencia 20-23 de noviembre. Centro Nacional de Nuevas Tecnologías. INSHT
- ATSDR, Evaluación específica de la salud pública, evaluación de las fuentes de agua potable y las rutas de aguas subterráneas, campo de bombardeo de la Isla de Vieques Puerto Rico
- Bird S Leavell, Oscar A. Thorup. Jr Hematología Clínica, 4ª Ed. Interamericana pp 180,193.
- Comisión Nacional del Agua de Torreón Coahuila, México. CNA 2004.
- Cueto Wong José Antonio, Héctor Mario Quiroga Garza y Carmen Teresa Becerra Morales. 2001. Nitrógeno disponible y desarrollo del ballico anual. I. Producción, calidad del forraje y acumulación de nitratos. Terra Latinoamericana. Vol1, (2). pp. 285-295
- Directrices de la OMS para la calidad del agua potable,

- establecidas en Génova, 1993. (<http://www.lenntech.com/espanol/est%C3%A1ndares-calidad-agua-OMS.htm>)
- García Conde J. (2003), Hematología, alteraciones hematológicas congénitas. Ed. ARAN, pp 321-331
- Guías para la OMS. Calidad del agua de bebida, 2005. (<http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacg/e/guiasoms3corr.pdf>).
- Ignazi, JC, 1993 Improving nitrogen management in irrigated, intensely cultivated areas; the approach in France. Prevention of water pollution by Agriculture and related activities, water report FAO, Roma pp 247_251.
- Joan Louis Vives, José Luis Aguilar, 2002 Manual de Técnicas de Laboratorio de Hematología. Determinación de la concentración de metahemoglobina en sangre. 2ª edición, pp137-139
- Julia Pacheco Ávila, Roberto Pat Canul y Armando Cabrera Sansores. 2002. Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al aguas subterránea y su efecto en los seres vivos. Ingeniería. Vol 6-3 pag. 73-81.
- Linch M.J., Raphael S.J., Mellor L.D., Spare P.D., Inwood M.J.H. 1979 Métodos de Laboratorio tomo I, ed. Interamericana pp. 470'476.
- MedLine Plus. 2007. Derivados de la Hemoglobina. Significado de los resultados anormales. Metahemoglobina. (<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003371>).
- Medina-Morales María del C y P. Cano-Ríos. 2001. contaminación por nitratos en agua, suelo y cultivos en la Comarca Lagunera. Revista Chapingo Serie Zonas Aridas Vo. 12(1). pag. 9-14ª
- Martínez J. G. 2001, determinación espacial de la vulnerabilidad de un acuífero a ser contaminado por nitratos, CENID-RASPA, INIFAP
- Matehus Ug, Holde Ahern, 2002, bioquímica de los compuestos derivados del nitrógeno, ed Adison weslwy.cap, 20 pp 682,7720.
- Miguel Rangel Medina 2001, análisis de vulnerabilidad en zonas áridas y semiáridas con énfasis en las condiciones de Mátape, Sonora, México. Seminario taller Protección de acuíferos frente a la contaminación
- Norma Oficial Mexicana 127 SSA. NOM 127-SSA
- Novotny, and H, Olem.1994,water quality; prevention, identification, pollution. Van Nostrand Reinhold. N.Y.
- Environmental Protection Agency, List of Contaminants & their MCLs 2002
- Sánchez-Echaniz J, Benito-Fernández J, Mintegui-Raso S. 2001. Methemoglobinemia and consumption of vegetables in infants. Pediatrics. Vol. 107 (5) pp 1024-8
- Savino F, Maccario S, Guidi C, Castagno E, Farinasso D, Cresi F, Silvestro L, Mussa GC. 2006. Methemoglobinemia caused by the ingestion of courgette soup given in order to resolve constipation in two formula-fed infants. Vol. 50 (4). pp 368-71
- Xu G, Song P, Reed P. 1992, The relationship between gastric mucosal changes and nitrate intake via drinking water in a high-risk population for gastric cancer in Moping county, China. Department of Nutrition and Food Hygiene, Beijing Medical University, PeoplesRepublicofChina.Eur J. Cancer Prev, 1(6):437-43.